

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7:

C07D 235/18, A61K 31/4184, C07D 209/14, A61K 31/404, A61P 25/00

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 00/29384

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

25. Mai 2000 (25.05.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/08466

A1

- (22) Internationales Anmeldedatum: 5. November 1999 (05.11.99)
- (30) Prioritätsdaten:

198 52 816.7

17. November 1998 (17.11.98) DE

- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AK-TIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LUBISCH, Wilfried [DE/DE]; Häuserstrasse 15, D-69115 Heidelberg (DE). KOCK, Michael [DE/DE]; Lillengasse 80, D-67105 Schifferstadt (DE). HÖGER, Thomas [DE/DE]; Rathenaustrasse 12, D-68535 Edingen-Neckarhausen (DE).
- (74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

- (54) Title: 2-PHENYLBENZIMIDAZOLES AND 2-PHENYLINDOLES, AND PRODUCTION AND USE THEREOF
- (54) Bezeichnung: 2-PHENYLBENZIMIDAZOLE UND 2-PHENYLINDOLE, DEREN HERSTELLUNG UND ANWENDUNG

(57) Abstract

The invention relates to the use of 2-phenyl-benzimidazoles and 2-phenylindoles of general formula (I), wherein A means N or CH, R¹ means hydrogen, branched and unbranched C₁-C₆ alkyl and a C-atom of the alkyl radical can also carry an OR¹¹ or a group R⁵, R² means hydrogen, chlorine, fluorine, bromine, iodine, branched and unbranched C₁-C₆ alkyl, nitro, CF₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹, R³ means(CH₂)_q-NR³¹R³² and q can be 0, 1, 2 or 3 and R⁴ means hydrogen, branched and unbranched C₁-C₆ alkyl, chlorine, bromine, fluorine, nitro, cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹; as inhibitors of the enzyme poly(ADP-ribose)-polymerase for producing medicaments.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel (I), worin A N oder CH bedeutet, R¹ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C6-Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR¹¹ oder eine Gruppe R⁵ tragen kann; R² Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C6-Alkyl, Nitro, CP₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹; R³ -(CH₂)q-NR³¹R³² bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann; R⁴ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C6-Alkyl, Chlor, Brom, Fluor, Nitro, Cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹, als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)-polymerase zur Herstellung von Arzneimitteln.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

PCT v	eröffentlichen.					~-	Slowenien
AL AM AT AU AZ BA BB BB BC BC CA CCC CCC CCC CCC CCC C	Albanien Ammenien Osterreich Australien Aserbaidschan Bosnien-Herzegowina Barbados Belgien Burktna Faso Bulgarien Benin Brasilien Beslarus Kanada Zentralafrikanische Republik Kongo Schweiz Côte d'Ivotre Kamerun China Kuba Tschechische Republik Denemark Estland	ES FI FR GA GB GB GR HU IE IL IS FI FR KC KC LC LL LK LR	Spanien Finnland Prankreich Gabun Vereinigtes Königreich Georgien Ghama Griechenland Ungarn Irland Israel Island Italien Japan Kenia Kirgisistan Demokratische Volksrepublik Korea Republik Korea Kasachstan St. Lucia Liechtenstein Sri Lanka Liberia	LS LT LU LV MC MD MG MK MI MN MR MV MX NE NI NO NZ PL PT RO RU SD SE SG	Lesotho Litamen Lutemburg Lettland Monaco Republik Moldan Madagaskar Die ehemalige jugoalawische Republik Mazedonien Maliawi Mongolei Mauretanien Malawi Mexiko Niger Niederlande Norwegen Neuseeland Polen Portugal Rumänien Russische Föderation Sudan Schweden Singapur	SI SK SN SZ TD TG TJ TM TT UA UG US VN YU ZW	Slowenen Slowenen Slowakei Senegal Swasiland Techad Togo Tadschikistan Turkei Trinidad und Tobago Ukraine Uganda Vereinigte Staaten von Amerika Usbekistan Vietnam Jugoslawien Zimbabwe

WO_00/29384 PCT/EP99/08466

2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole, deren Herstellung und Anwendung

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole, ihre Herstellung und die Verwendung als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 10 2.4.2.30) zur Herstellung von Arzneimitteln.

Poly(ADP-ribose)synthase (PARS) stellt ein regulatorisches Enzym dar, das in Zellkernen gefunden wird (K. Ikai et al., J.Histo15 chem. Cytochem. 1983, 31, 1261-1264). Man nimmt an, daß PARP eine Rolle bei der Reparatur von DNA-Brüchen spielt (M.S. Satoh et al., Nature 1992, 356, 356-358). Schädigungen oder Brüche der DNA-Stränge aktivieren das Enzym PARP, das, wenn es aktiviert ist, die Übertragung von ADP-Ribose aus NAD katalysiert (S. Shaw, 20 Adv.Radiat.Biol., 1984, 11, 1-69). Dabei wird Nikotinamid aus NAD freigesetzt. Nikotinamid wird unter Verbrauch des Energieträgers ATP von anderen Enzymen wieder in NAD umgewandelt. Eine Überaktivierung von PARP hätte dementsprechend einen unphysiologisch hohen Verbrauch von ATP zur Folge und dies führt im Extremfall zu Zellschädigungen und Zelltod.

Es ist bekannt, daß Radikale wie Superoxid-Anion, NO und Wasserstoffperoxid in Zellen zu DNA-Schädigungen führen können und damit PARP aktivieren. Die Bildung von großen Mengen an Radikalen 30 wird bei eine Reihe von pathophysiologischen Zuständen beobachtet und man geht davon aus, daß diese Anhäufung von Radikalen zu den beobachteten Zell- bzw Organschäden führen oder beitragen. Dazu zählt von zum Beispiel ischämische Zustände von Organen wie im Schlaganfall, Herzinfarkt (C. Thiemermann et al., Proc.Natl.A-35 cad.Sci.USA, 1997, 94, 679-683) oder Ischämie der Nieren, aber auch Reperfusionsschäden wie sie zum Beispiel nach der Lyse von Herzinfarkt auftreten (s. oben: C. Thiemermann et al.). Die Hemmung von dem Enzym PARP könnte demzufolge ein Mittel sein, um diese Schäden zum mindestens zum Teil zu verhindern oder abzumil- dern. PARP-Inhibitoren könnten somit ein neues Therapieprinzip zur Behandlung von eine Reihe von Krankheiten darstellen.

Das Enzym PARP beeinflußt die Reparatur von DNA-Schäden und könnte somit auch in der Therapie von Krebs-Erkrankungen eine 45 Rolle spielen, da in Kombination mit cytostatisch wirksamen Stoffen ein höheres Wirkpotential gegenüber Tumorgewebe beobachtet wurde (G. Chen et al. Cancer Chemo. Pharmacol. 1988, 22, 303).

Nicht limitierende Beispiele für Tumoren sind Leukämie, Glioblassome, Lymphome, Melanome, Mama- und Zervikalkarzinome.

Zudem wurde gefunden, daß PARP-Inhibitoren immunosuppressive Wir-5 kung zeigen können (D. Weltin et al. Int. J. Immunopharmacol. 1995, 17, 265-271).

Es wurde ebenfalls entdeckt, daß PARP bei immunologischen Erkrankungen bzw. Krankheiten, in denen das Immunsystem eine wichtige 10 Rolle spielt, wie zum Beispiel rheumatoide Arthritis und septischer Schock, involviert ist, und daß PARP-Inhibitoren einen günstigen Effekt auf den Krankheitsverlauf zeigen können (H. Kröger et al. Infammation 1996, 20, 203-215; W.Ehrlich et al. Rheumatol. Int. 1995, 15, 171-172; C.Szabo et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1998, 95, 3867-3872; S. Cuzzocrea et al. Eur.J.Pharmacol. 1998, 342, 67-76).

Unter PARP im Sinne dieser Erfindung werden auch Isoenzyme des oben beschriebenen PARP-Enzyms verstanden.

20

Weiterhin zeigte der PARP-Inhibitor 3-Aminobenzamid protektive Effekte in einem Model für den Kreislaufschock (S. Cuzzocrea et al., Br.J.Pharmacol. 1997, 121, 1065-1074).

- 25 Ebenfalls gibt es experimentelle Hinweise, das Inhibitoren des Enzymes PARP als Mittel zur Behandlung von Diabetes mellitus nützlich sein könnten (V. Burkart et al. Nature Med. 1999, 5, 314-319).
- 30 2-Phenylbenzimidazole sind vielfach beschrieben worden. So sind in DE 38 30 060 alkylierte Derivate als Inhibitoren der Erythrozytenaggregation offengelegt. In DE 35 22 230 ist ein Ester-Derivat vom 2-Phenylbenzimidazol als Inhibitor der Plättchenaggragation aufgeführt. Halogen-substituierte 2-Phenylbenzimizazole, die 35 am Phenyl-Ring substituierte Amin-Reste tragen, sind in WO 98/06703 als MCP-1-Antagonisten beschrieben worden.

Ebenfalls sind 2-Phenyl-benzimidazole bekannt, bei denen die Benzimidazol-Gruppe durch eine Amid-Gruppe substituiert ist.

- 40 5-Amido-Derivate des 2-Phenylbenzimidazols, die am Phenyl-Ring Alkyloxy-Reste tragen, sind in WO 94/12461 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase beschrieben worden. Für analoge Derivate wurde in DE 35 46 575 (z.B. Beispiel 15) gefunden, daß diese Verbindungen positiv inotrope Effekte auslösen. Ebenfalls
- 45 4-Amido-Derivate, die in 3-Stellung ein Pyridyl-Rest tragen, sind

in WO 97/48697 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase aufgeführt.

Die Synthese von 2-Phenyl-benzimidazyl-4-amiden ist in 5 J.Chem.Soc. Perkin Trans 1, 1979, 2303-2307 beschrieben worden. Analoge Verbindungen, die am Amid-Rest noch eine substituierte Alkyl-Kette tragen, und die cytotoxische Wirkung haben sollen, sind in J.Med.Chem. 1990, 33, 814-819 aufgeführt. In WO 97/04771 sind dagegen Benzimidazol-4-amide aufgeführt, die das PARS hem-10 men. Insbesondere sind Derivate dort als wirksam beschrieben , die einen Phenyl-Ring in 2-Stellung tragen, wobei der Phenyl-Ring noch mit einfachen Substituenten wie Nitro, Methoxy und CF3, substituiert sein kann. Obwohl diese Substanzen zum Teil gute Hemmung des Enzyms PARP zeigen, haben die dort beschrieben Derivate 15 als Nachteil, daß sie nur wenig oder keine Löslichkeit in wäßrigen Lösungen zeigen und somit nicht als wäßrige Lösung appliziert werden können.

In einer Reihe von Therapien wie Schlaganfall werden die Wirk-20 stoffe intravenös als Infusionslösung appliziert. Dazu ist es notwendig Substanzen, hier PARP-Inhibitoren, zur Verfügung zu haben, die ausreichende Wasserlöslichkeit bei physiologischen pH-Werten oder angenäherten pH-Werten (z.B: pH-Werten von 5-8) aufweisen, so daß eine Infusionslösung hergestellt werden kann. 25 Viele der beschriebenen PARP-Inhibitoren, insbesondere die besser wirksamen PARP-Inhibitoren, haben jedoch den Nachteil, daß sie nur geringe oder keine Wasserlöslichkeit bei diesen pH-Werten zeigen und somit nicht für eine intravenöse Applikation in Frage kommen. Derartige Wirkstoffe können nur mit Hilfsstoffen, die die 30 Wasserlöslichkeit vermitteln sollen, appliziert werden (vgl WO 97/04771). Diese Hilfsstoffe, zum Beispiel Polyethylenglykol und Dimethysulfoxid, verursachen häufig Nebeneffekte oder sind sogar unverträglich. Gut wirksame PARP-Inhibitoren mit ausreichender Wasserlöslichkeit sind bisher nicht beschrieben worden.

Es wurde überraschender weise gefunden, daß 2-Phenyl-benzimidazole, die am Phenyl-Ring noch einen Amin-Rest tragen, gut wirksame Inhibitoren darstellen, die aber durch den Einbau des aliphatischen Amin-Restes eine Salzbildung mit Säuren ermöglichen 40 und dadurch eine deutlich verbesserte Wasserlöslichkeit zeigen.

35

In der vorliegenden Erfindung werden neue 2-Phenylbenzimidazolund 2-Phenylindol-Derivate der allgemeinen Formel I beschrieben, die gegenüber den bereits beschriebenen Verbindungen Vorteile 45 zeigen und potente PARP-Inhibitoren darstellen und zugleich auch ausreichende Wasserlöslichkeit zeigen, die eine Applikation als Infusionlösung ermöglicht.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind substituierte 2-Phe-5 nylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel I:

15 worin

A N oder CH bedeutet,

20 R^1 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR^{11} oder eine Gruppe R^5 tragen kann, wobei

 R^{11} Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeutet, und

25 R²

45

Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Nitro, CF_3 , CN, $NR^{21}R^{22}$, NH-CO- R^{23} , OR^{21} , wobei

30 R^{21} und R^{22} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $C_1\text{-}C_4\text{-}Alkyl$ bedeuten und

 R^{23} Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

35 R^3 - $(CH_2)_q$ -NR³¹R³², $(CH_2)_q$ -NR³³R³⁴ bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann,

 R^{31} bedeutet Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, $(CH_2)_rNR^{33}R^{34}$

40 R_{32} bedeutet (CH₂)_rNR³³R³⁴,

worin bei R^{31} und R^{32} unabhängig voneinander r 2, 3, 4, 5 oder 6 bedeutet und R^{33} und R^{34} unabhängig voneinander Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus 0, N- C_1 - C_4 -Alkyl, N- C_0 - C_2 -Phenyl oder NH tragen kann,

Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, wobei der Phenylring mit bis zu 3 gleichen oder verschiedenen Substituenten ausgewählt aus der Gruppe C₁-C₆-Alkyl, Halogen, Nitro, $SO_2NR^{35}R^{36}$ (mit R^{35} , R^{36} unabhängig voneinander gleich Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, S, SO_2 , $N-C_1-C_4-Alkyl$, $N-C_0-C_2-Phenyl$ oder NH tragen kann), $C_1-C_4-Alkyl$, $N-C_0-C_2-Phenyl$ oder NH tragen kann), $C_1-C_4-Alkyl$, $S(O)_{0-2}-R^{37}$ (mit R^{37} gleich Wasserstoff, $C_1-C_4-Alkyl$). CF_3 , $(CH_2)_{0-4}-COR^{37}$, $(CH_2)_{0-4}NR^{35}R^{36}$, $(CH_2)_{0-4}CONR^{35}R^{36}$, $(CH_2)_{0-4}OR^{37}-CH_2COOR^{37}$,

R4 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes

C1-C6-Alkyl, Chlor, Brom Fluor, Nitro, Cyano, NR41R42,

NH-C0-R43, OR41, wobei

 R^{41} und R^{42} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $C_1\text{-}C_4\text{-}Alkyl$ bedeuten und

20 R⁴³ C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

5

10

Bevorzugte Positionen für den Rest R² in der allgemeinen Formel I sind die 3-Position und die 4-Position zum Benzimidazolring. Für den Rest R³ ist ebenfalls die 3-Position oder 4-Position zum Benz25 imidazolring bevorzugt.

Die bevorzugte Bedeutung von A ist Stickstoff.

Die bevorzugte Bedeutung von R¹ ist Wasserstoff.

Die bevorzugte Bedeutung von R^2 ist Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Nitro, CN, NH₂, O- C_1 - C_4 -Alkyl. Besonders bevorzugt ist R^2 gleich Wasserstoff.

- 35 Die bevorzugte Bedeutung für R³ ist (CH₂)_{1,2}NR³⁵R³⁶ und N(R³⁷)-(CH₂)₂₋₃NR³⁵R³⁶, worin R³⁷ Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl sein kann, R³⁵ und R³⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl und zusammen als NR³⁵R³⁶ auch cyclische aliphatische Amine wie Piperidin, Pyrrolidin, Azepin und Piperazin sein kön-
- 40 nen, wobei das Piperazin am zweiten N-Atom noch mit Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl substituiert sein kann.

Die bevorzugte Bedeutung von R⁴ ist Wasserstoff.

45 Ganz besonders bevorzugt sind die jeweiligen Kombinationen der obigen bevorzugten Bedeutungen.

WO.00/29384 PCT/EP99/08466

Die Verbindungen der Formel I können als Racemate, als enantiomerenreine Verbindungen oder als Diastereomere eingesetzt werden.
Werden enantiomerereine Verbindungen gewünscht, kann man diese
beispielweise dadurch erhalten, daß man mit einer geeigneten optisch aktiven Base oder Säure eine klassische Racematspaltung mit
den Verbindungen der Formel I oder ihren Zwischenprodukten durchführt.

Gegenstand der Erfindung sind auch zu Verbindungen der Formel I 10 mesomere oder tautomere Verbindungen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die physiologisch verträglichen Salze der Verbindungen I, die sich durch Umsatz von Verbindungen I mit einer geeigneten Säure oder Base erhalten lassen. Geeignete Säuren und Basen sind zum Beispiel in Portschritte der Arzneimittelforschung, 1966, Birkhäuser Verlag, Bd.10, S. 224-285, aufgelistet. Dazu zählen zum Beispiel Salzsäure, Citronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Maleinsäure, Fumarsäure usw. bzw. Natriumhydroxid, Lithiumhydroxid, Kaliumhydroxid und Tris.

Unter Prodrugs werden solche Verbindungen verstanden, die in vivo in Verbindungen der allgemeinen Formel I metrabolisiert werden.

25 Typische Prodrugs sind Phosphate, Carbamate von Aminosäuren, Ester und andere.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen I kann auf verschiedenen Wegen erfolgen, die analog denen sind, die in WO 30 98/06703 für Benzimidazol und Indol gezeigt wurden, und den Syntheseschemata 1-3 skizziert wurden.

35

Syntheseschema 1

Durch Kondensation des Benzaldehyds mit Phenylendiaminen erhält man das Benzimidazol VII, wobei man bevorzugt in polaren Lösungsmitten wie Ethanol oder Dimethylformamid und Zusatz von Säuren wie Essigsäure bei erhöhter Temperatur arbeitet, in der Regl 80-120oC. Günstig für die Reaktion ist der Zusatz von schwachen Oxidationsmittel wie Kupfer-II-Salzen, die als wäßrige Lösung zugesetzt werden.

40

Syntheseschema 2

Wenn in dem Phenylendiamin VIII R = NH₂ ist, entstehen bei der Kondensation direkt erfindungsgemäße Verbindungen I. Ansonsten 25 kann man, falls R = O-Alkyl ist, diesen Ester mit Ammoniak, bei gegebenenfalls erhöhert Temperatur und erhöhtem Druck, zum Amid I umsetzten. Alternativ kann man den Ester VIII mit Hydrazin in polaren Lösungsmitteln wie die Alkohole Butanol und Ethanol oder auch Dimethylformamid, bei erhöhten Temperaturen, vorzugsweise 30 80-130oC, umsetzten, wobei ein Hydrazid VIII (R = NHNH₂) anfällt, das danach noch unter reduktiven Bedingungen, wie mit Raney-Nikkel in Alkoholen unter Rückfluß, zum Amid I reduziert werden kann.

35 Eine Einführung des Restes R1 am Benzimidazol-Rest in I (R1 =H) gelingt unter Alkylierungsbedingungen wie oben (siehe V -VI), wobei allerdings der Reaktionspartner R1-L (L = Abgangsgruppe wie oben) eingesetzt werden muß(siehe Schema 1).

Synthesschema 3

Alternativ zuden im Schema 1 gezeigten Benzaldehyden VI kann man auch Benzoesäuren wie XI (siehe Schema 2) oder Benzonitrile wie XIV(siehe Schema 3) anstelle des Benzaldehyds einsetzen. Die 25 Herstellung dieser Derivate erfolgt analog zur Herstellung der substituierten Benzaldehyde VI. Ausgehend von XI erfolgt die Kondensation zu VII in zwei Stufen. Zuerst wird die Benzoesäure XI mit dem Anilin VI in einer peptidartigrn Kupplung zum Amid XII umgesetzt. Dabei arbeitet man nach üblichen Bedingungen, die zum 30 Beispiel im Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4.Aufl., E5, Kap.V bzw. C.R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publisher, 1989, Seite 972f. aufgelistet sind. Der Ringschluß erfolgt zum Benzimidazol erfolgt danach bei erhöhter Temperatur, zum Beispiel 60-180oC, mit oder ohne Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, unter Zusatz von Säuren wie Essigsäure oder direkt in Essigsäure selbst.

Die Reaktion des Phenylendiamins VI mit einem Benzonitril XIV erfolgt ebenfall unter üblichen Bedingungen. Dabei kann man in Lö40 sungsmitten wie Dimethylformamid unter Zusatz von Säuren oder auch in Polyphosphorsäure bei erhöhter Temperatur wie 60-200oC arbeiten. Allerdings kann man auch die üblichen Methoden zur Herstellung von Amidinen aus Benzonitrilen anwenden, wie sie in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, E5, S. 1304 f., J.
45 Amer.Chem.Soc. 1957, 427 und J.Org.Chem. 1987,1017 beschrieben sind.]

Die in der vorliegenden Erfindung enthaltenen substituierten 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I stellen Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30) dar.

Die inhibitorische Wirkung der substituierten 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I wurde mit einem in der Literatur bereits bekannten Enzymtest ermittelt, wobei als Wirkmaßstab ein Ki-Wert ermittelt wurde. Die 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I wurden in dieser Weise auf Hemmwirkung des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30) gemessen.

Die substituierten 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formeln I stellen Inhibitoren der Poly(ADP-ri-

- 15 bose)polymerase (PARP) bzw. wie es auch genannt wird Poly(ADP-ribose)synthase (PARS) dar und können somit zur Behandlung und Prophylaxe von Krankheiten, die mit einer erhöhten Enzymaktivität dieser Enzyme verbunden sind, dienen.
- 20 Die Verbindungen der Formeln I können zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen nach Ischämien und zur Prophylaxe bei erwarteten Ischämien verschiedener Organe eingesetzt werden.
- 25 Die vorliegenden 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel I können danach zur Behandlung und Prophylaxe von neurodegenerativen Krankheiten, die nach Ischämie, Trauma (Schädel-Hirntrauma), Massenblutungen, Subarachnoidal-Blutungen und Stroke auftreten, und von neurodegenerativen Krankheiten wie
- 30 multipler Infarkt-Dementia, Alzheimer Krankheit, Huntington Krankheit und von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonischclonische Anfälle und partiell epileptischen Anfällen, wie Temporal Lope, und komplex-partiellen Anfällen, und weiterhin zur Be-
- 35 handlung und Prophylaxe von Schädigungen des Herzens nach cardialen Ischämien und Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien, zum Beispiel der akuten Niereninsuffizienz, des akuten Nierenversagens oder von Schädigungen, die während und nach einer Nierentransplantation auftreten, dienen. Weiterhin können die
- 40 Verbindungen der allgemeinen Formel I zur Behandlung des akuten Myocardinfarkts und Schädigungen, die während und nach dessen medikamentöser Lyse auftreten (zum Beispiel mit TPA, Reteplase, Streptokinase oder mechanisch mit einem Laser oder Rotablator) und von Mikroinfarkten während und nach Herzklappenersatz, Aneu-
- 45 rysmenresektionen und Herztransplantationen dienen. Ebenfalls können die vorliegenden 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I zur Behandlung einer Revascularisation kritisch verengter Koro-

naraterien, zum Beispiel bei der PCTA und Bypass-Operationen, und kritisch verengter peripherer Arterien, zum Bespiel Beinarterien, dienen. Zudem können die 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I bei der Chemotherapie von Tumoren und deren Metastasierung 5 nützlich sein und zur Behandlung von Entzündungen und rheumatischen Erkrankungen, wie z.B. rheumatischer Arthritis dienen.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen enthalten neben den üblichen Arneimittel-hilfstoffen eine therapeutisch wirksame 10 Menge der Verbindungen I.

Für die lokale äußere Anwendung, zum Beispiel in Puder, Salben oder Sprays, können die Wirkstoffe in den üblichen Konzentrationen enthalten sein. In der Regel sind die Wirkstoffe in einer Menge von 0,001 bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 bis 0,1 Gew.-% enthalten.

Bei der inneren Anwendung werden die Präperationen in Einzeldosen verabreicht. In einer Einzeldosis werden pro kg Körpergewicht 0,1 20 bis 100 mg gegeben. Die Zubereitung können täglich in einer oder mehreren Dosierungen je nach Art und Schwere der Erkrankungen verabreicht werden.

Entsprechend der gewünschten Applikationsart enthalten die erfindungsgemäßen Arznei-mittelzubereitungen neben dem Wirkstoff die üblichen Trägerstoffe und Verdünnungsmittel. Für die lokale äußere Anwendung können pharmazeutisch-technische Hilfsstoffe, wie Ethanol, Isopropanol, oxethyliertes Ricinusöl, oxethyliertes Hydriertes Ricinusöl, Polyacrylsäure, Polyethylenglykol, Polyethylenglykostearat, ethoxylierte Fettalkohole, Paraffinöl, Vaseline und Wollfett, verwendet werden. Für die innere Anwendung eignen sich zum Beispiel Milchzucker, Propylenglykol, Ethanol, Stärke, Talk und Polyvinylpyrrolidon.

- 35 Ferner können Antioxidationsmittel wie Tocopherol und butyliertes Hydroxyanisol sowie butyliertes Hydroxytoluol, geschmacks-verbessernde Zusatzstoffe, Stabilisierungs-, Emulgier- und Gleitmittel enthalten sein.
- 40 Die neben dem Wirkstoff in der Zubereitung enthaltenen Stoffe sowie die bei der Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen verwendeten Stoffe sind toxikologisch unbedenklich und mit dem jeweiligen Wirkstoff verträglich. Die Herstellung der Arzneimittelzubereitungen erfolgt in üblicher Weise, zum Beispiel durch
- **45** Vermischung des Wirkstoffes mit anderen üblichen Trägerstoffen und Verdünnungsmitteln.

Die Arzneimittelzubereitungen können in verschiedenen Applikationsweisen verbreicht werden, zum Beispiel peroral, parenteral wie
intravenös durch Infusion, subkutan, intraperitoneal und topisch.
So sind Zubereitungsformen wie Tabletten, Emulsionen, Infusionsund Injektionslösungen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotionen,
Puder und Sprays möglich.

Beispiel 1

2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benz-10 imidazol-4-carbonsäureamid

- a) 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureethylester
- 2,0 g (12 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester wurden in 100 ml Methanol gelöst und mit 1,7 ml (27,7 mMol) Essigsäure versetzt. Anschließend wurden 2,4 g (10,1 mMol) 4(2(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)benzaldehyd, gelöst in 100 ml Methanol, innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Man tropfte
- eine Lösung von 1,7 g (8,5 mMol) Kupfer-II-acetat in 30 ml Wasser zu und erwärmt danach alles für 50 Minuten unter Rückfluß. Man ließ die Reaktionslösung auf 50°C abkühlen und gab vorsichtig 20 ml 32%ige Salzsäure zu. Dann wurde noch eine Lösung aus 3,9 g (16,2 mMol) Natriumsulfid-Hydrat in 20 ml
- Wasser zugetropft und alles für 10 Minuten gerührt. Der Niederschlag wurde abgesaugt und das Filtrat durch Zugabe von wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisiert. Diese wäßrige Phase wurde mit Essigester extrahiert, die organische Phase abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 2,6 g des Produktes.
 - b) 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäurehydrazid
- 2,6 g (6,8 mMol) des Zwischenproduktes 1 und 3,4 g (68,3 mMol) hydrazinhydrat wurden in 70 ml n-Butanol gegeben und für 12 Stunden auf 120°C erwärmt. Danach wurde das Butanol im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 1,1 g des Produktes.

2(4-(N, N-2-(N, N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

Zu 1,1 g (2,9 mMol) des Zwischenproduktes 1b in 30 ml Dimethylformamid wurden 1 g Raney-Nickel gegeben und alles 5 für 8 Stunden auf 120°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 0,9 g des Produktes. 10 $1_{H-NMR}(D_6-DMSO): \delta = 2,2 (6H), 2,4 (2H), 3,0 (3H), 3,5 (2H),$ 6,8 (2H), 7,2 (1H), 7,6-7,8 (3H), 8,1 (2H), 9,5 (1H) und

13,2 (1H) ppm.

15 Beispiel 2

2(4-(N,N-2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

Die Verbindung wurde analog zu den Vorschriften im Beispiel 1 20 hergestellt.

 $^{1}H-NMR(D_{6}-DMSO)$: $\delta = 2,2$ (6H), 2,55 (2H), 3,1 (2H), 7,4 (1H), 7,8 (2H), 7,9 (1H), 8,1 (1H), 8,3 (1H), 8,4 (1H), 9,2 (1H) ppm.

Beispiel 3

- 25 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)benzimidazol-4carbonsäureamid
 - 3 (E-2-N, N-Dimethylamino-ethen-1-yl)-4-nitro-benzoesäurea) methylester
- 30 10 g (47,8 mMol) 3-Methyl-4-nitrobenzoesäureethylester und 30 ml N,N-Dimethylformamiddimethyl-acetal wurden in 100 ml Diemthylformaid für 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde der Ansatz im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in 100 ml Toluol gelöst und durch Zugabe von 35 Petrolether wurde das Produkt ausgefällt. Man erhielt 7,5 g des Produktes.
 - 3(2-N, N-Dimethylamino-eth-1-yl)-4-nitrobenzylalkohol b)

40 Zu 7 g (26,5 mMol) des Zwischenproduktes 3a in 70 ml Ethanol wurden 2,0 g (53 mMol) Natriumborhydrid portionsweise zugegeben. Anschließend wurde alles für 30 Minuten unter Rückfluß erwärmt. Die Reaktionslösung wurde dann im Vakuum eingeengt. Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester 45 verteilt. Die organische Phase abgetrennt, mit Wasser und mit wäßriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, getrocknet und im

Vakuum eingeengt. Das so erhaltene Öl wurde in Ethanol gelöst und mit etherische Chlorwasserstoff-Lösung versetzt. Das Produkt kristallisierte als Hydrochlorid aus. Man erhielt 2,5 g.

5

- c) 3(2-N,N-Dimethylamino-eth-1-yl)-4-nitrobenzaldehyd
- 2,35 g (9 mMol) des Zwischenproduktes 3b und 6,3 ml (45 mMol)
 Triethylamin wurden in 50 ml Dimethylsulfoxid gelöst. Danach
 gab man 2,9 g (18 mMol) des Pyridin-Schwefeltrioxid-Adduktes
 portionsweise zu und rührte alles für 60 Minuten. Danach
 wurde der Ansatz im Vakuum eingeengt und der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase
 wurde noch zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und im
 Vakuum eingeengt. Man erhielt 1,8 g des Produktes.
 - d) 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid
- Das Zwischenprodukt 51c wurde analog der Vorschriften aus Beispiel 29a,b und c zum Produkt umgesetzt. $^{1}\text{H-NMR}(D_6\text{-DMSO}): \delta = 1,25 \ (6\text{H}), 3,1 \ (3\text{H}), 3,2 \ (4\text{H}), 3,9 \ (2\text{H}), 7,0 \ (2\text{H}), 7,2 \ (1\text{H}), 7,6-7,9 \ (3\text{H}), 8,1 \ (2\text{H}), 9,5 \ (1\text{H}), 10,9 \ (1\text{H}) \ und 13,5 \ (breit) ppm.$

25

Analog der Methoden, die in WO 98/06703 beschrieben wurden oder der Methoden in der vorliegenden Anmeldung beschrieben sind, können folgende Beispiele hergestellt werden:

- 30 1. 2(4-(Diethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-amid
 - 2. 2(4-(Dimethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-amid

- 2(4-(Pyrrolidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 4. 2(4-(Piperidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-
 - 5. 2(4-Aminomethyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 6. 2(4-(Methylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 7. 2(4-(Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

- 7. 2(4-(Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 8. 2(4(2(Diethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid

- 9. 2(4(2(Dimethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- 10. 2(4(2-Aminoeth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

10

- 11. 2(4(2(Methylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- 12. 2(4(2(Ethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 13. 2(4(2(Pyrrolidin-1yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- 20 14. 2(4(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
 - 15. 2(3-(Diethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-amid

- 16. 2(3-(Dimethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-amid
- 17. 2(3-(Pyrrolidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbon30 säureamid
 - 18. 2(3-(Piperidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-amid
- 35 19. 2(3-Aminomethyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 20. 2(3-(Methylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 21. 2(3-(n-Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-40 amid
 - 22. 2(3(2(Diethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- 45 23. 2(3(2(Dimethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid

- 24. 2(3(2-Aminoeth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 25. 2(3(2(N-Methylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid

- 26. 2(3(2(N-Ethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- 27. 2(3(2(Pyrrolidin-1yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 28. 2(3(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- 15 29. 2(4-N,N-(2-Aminoeth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 30. 2(4-N-(2(Diethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

20

- 31. 2(4-N-(2(Dimethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 32. 2(4-N-(2-Aminoeth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 33. 2(3-N, N-(2(Dimethylamino)eth-1-yl)methylamino)phenyl-benz-imidazol-4-carbonsäureamid
- 30 34. 2(3-N,N-(2-Aminoeth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 35. 2(3-N-(2(Diethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

- 36. 2(3-N-(2(Dimethylamino)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 37. 2(3-N-(2-Aminoeth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 38. 2(3-N,N-(3(Diethylamino)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benz-imidazol-4-carbonsäureamid
- **45** 39. 2(3-N,N-(3(Dimethylamino)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benz-imidazol-4-carbonsäureamid

- 40. 2(3-N,N-(3-Aminoprop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 41. 2(3-N-(3(Diethylamino)prop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4carbonsäureamid
 - 42. 2(3-N-(3(Dimethylamino)prop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 10 43. 2(3-N-(3-Aminoprop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbon-säureamid
 - 44. 2(3-N, N-(2-Pyrrolidion-1-yl-eth-1-yl)methylamino)phenyl-benz-imidazol-4-carbonsäureamid

- 45. 2(3-N-(2(Pyrrolidion-1-yl)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 46. 2(3-N,N-(3(Pyrrolidin-1-yl)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - 47. 2(3-N, N-(3(Piperidin-1-yl)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benz-imidazol-4-carbonsäureamid
- 25 48. 2(3-N, N-(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
 - Beispiel A: Hemmung des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30)

- Eine 96well Mikrotiterplatte (Falcon) wird mit Histonen (Type II-AS; SIGMA H7755) beschichtet. Histone werden dazu in Carbonat-Puffer (0,05 M NaHCO3; pH 9,4) zu einer Konzentration von 50 μ g/ml gelöst. Die einzelnen Wells der Mikrotiterplatte werden über
- 35 Nacht mit je 100 µl dieser Histon Lösung inkubiert. Anschließend wird die Histon Lösung entfernt und die einzelnen Wells mit 200 µl einer 1%igen BSA (Bovine Serum Albumine) Lösung in Carbonat-Puffer für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird dreimal mit Waschpuffer (0,05 % Tween10 in PBS)
- 40 gewaschen. Für die Enzymreaktion werden je Well 50 μ l der Enzymreaktionslösung (5 μ l Reaktions-Puffer (1M Tris-HCl pH 8.0, 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT,) 0.5 μ l PARP (c = 0.22 μ g/ μ l), 4 μ l aktivierte DNA (SIGMA D-4522, 1mg/ml in Wasser), 40,5 μ l H₂O) mit 10 μ l einer Inhibitorlösung für 10 Minuten vorinkubiert. Die Enzymreaktion
- 45 wird durch Zugabe von 40 μ l einer Substratlösung (4 μ l Reaktion-Puffer (s.o.), 8 μ l NAD-Lösung (100 μ M in H₂O), 28 μ l H₂O) gestartet. Reaktionszeit ist 20 Minuten bei Raumtemperatur. Die

Reaktion wird durch dreimaliges Waschen mit Waschpuffer (s.o.) gestoppt. Anschließend folgt eine einstündige Inkubation bei Raumtemperatur mit einem spezifischen Anti-Poly-ADP-Ribose Anti-körper inkubiert. Als Antikörper wurden ein monoklonaler anti-5 Poly-(ADP-ribose) Antikörpern "10H" (Kawamaitsu H et al. (1984) Monoclonal antibodies to poly (adenosine diphosphate ribose) recognize different structures. Biochemistry 23, 3771-3777) verwendet. Polyklonale Antikörper können ebenso verwendet werden.

- 10 Die Antikörper wurden in einer 1:5000 Verdünnung in Antikörper-Puffer (1%BSA in PBS; 0,05 % Tween20) eingesetzt. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer folgt eine einstündige Inkubation bei Raumtemperatur mit dem sekundärem Antikörper. Hier wurden für den monoklonalen Antikörper ein anti-Maus-IgG gekoppelt mit
- 15 Peroxidase (Boehringer Mannheim) und für den Kaninchen Antikörper ein anti-Rabbit-IgG gekoppelt mit Peroxidase (SIGMA A-6154) jeweils in einer 1:10000 Verdünnung in Antikörperpuffer verwendet. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer erfolgt die Farbreaktion unter Verwendung von 100 μl/Well Farbreagenz (SIGMA,
- 20 TMB-Fertigmix, T8540) für ca. 15 min. bei Raumtemperatur. Die Farbreaktion wird durch Zugabe von 100 μl 2M H₂SO₄ gestoppt. Danach wird sofort gemessen (450 nm gegen 620 nm; ELISA Platten Lesegerät "Easy Reader" EAR340AT, SLT-Labinstruments, Österreich). Der IC₅₀-Wert eines zu messenden Inhibitors liegt bei der
- 25 Inhibitorkonzentration, wo eine halbmaximale Farbkonzentrations- änderung auftritt. Der K_i -Wert entspricht der Inhibitonskonstante. Folgende K_i -Werte wurden bestimmt:

Beispiel 1: 16 nM 30 Beispiel 2: 10 nM

Beispiel 3: 4 nM

Beispiel B: Bestimmung des Wasserlöslichkeit

- 35 Eine zu messende Verbindung wird direkt in einem festgelegten Volumen Wasser gelöst und die entstandenne Lösung mit einer Natriumacetat-Lösung auf pH 5 bis 6 eingestellt, so daß die zu prüfende Konzentartion des Wirkstoffs erreicht wird. Fall die Meßsubstanz nicht als wasserelösliches Salz vorliegt, wurde diese
- 40 in möglichst wenig Dimethylsulfoxid gelöst und anschließend mit Wasser verdünnt (Endkonzentration an Dimethylsulfoxid ≤ 1 %), wonach auch hier der pH-Wert noch eingestellt wurde. Der potente PARP-Inhibitor NU 1076 (WO 97/04771) zeigte hier eine Löslichkeit < 0,01 %, wogegen das erfindungsgemäßen Beispiele eine Löslich-</p>
- 45 keit > 0,5 % aufweist.

Beispiel C: Test von PARP-Inhibitoren in einem zellulären Assay

Zum Test der Wirkung von PARP-Inhibitoren werden eukaryontische Zellinien mit Chemikalien so behandelt, daß die DNA der Zellinie 5 geschädigt und dadurch das in den Zellen vorhandene PARP-Enzym aktiviert wird. Durch die Aktivierung des Enzym werden Ketten von poly-ADP-Ribose (PAR) auf Proteinen gebildet. Diese Ketten werden von einem spezifischen Antikörper gebunden. Dieser wird wiederum von einem zweiten Antikörper gebunden, der mit einer 10 fluoreszenten Markierung versehen ist. Die Fluoreszenz wird mit einem Fluoreszenzscanner gemessen und verhält sich zur Aktivität des Enzyms PARP proportional. PARP-Inhibitoren lassen sich an einer Abschwächung des Fluoreszenzsignals erkennen. Um Verfälschungen der Ergebnisse durch unterschiedliche Zellzahlen zu verhindern, wird die DNA der Zellen mit einem weiteren Farbstoff markiert und dessen Fluoreszenz ebenfalls im Fluoreszenzscanner bestimmt.

400000 Zellen der humanen Zellinie C4I werden in Zellkultur-20 platten mit 24 Kavitäten in RPMI-Medium mit 10% fötalen Rinderserum bei 37°C, 5 % CO2 bis zum Erreichen eines dichten Zellrasens bebrütet. Die Zellen werden mit DMEM gewaschen und die zu testenden PARP-Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen in DMEM zugegeben. Nach einer Inkubation für 20 min bei 37°C wird mit 25 Wasserstoffperoxid eine Konzentration von 1 mM eingestellt und weitere 10 min bei 37°C inkubiert. Zur Kontrolle werden Zellen in einigen Kavitäten nicht mit Wasserstoffperoxid behandelt (keine PARP-Aktivierung) oder erhalten keinen Inhibitor (maximale PARP-Aktivierung). Die Zellen werden einmal mit PBS gewaschen und 30 durch Zugabe von auf -20°C vorgekühltem Methanol/Aceton Gemisch (7 Teile Methanol, 3 Teile Aceton) 10 min bei -20°C fixiert. Danach werden die Zellen getrocknet, durch Zugabe von PBS für 10min bei Zimmertemperatur rehydratisiert und unspezifische Bindungsstellen in PBS mit 0,05 % Tween20 und 5 % Trockenmilchpulver für 35 30 min bei Zimmertemperatur blockiert. Der Maus anti-PAR Antikörper wird in einer Konzentration von 20 μ g/ml in PBS mit 0,05 % Tween20 und 5 % Trockenmilchpulver zugegeben und 1 h bei 37°C inkubiert. Nicht gebundener Antikörper wird durch fünfmaliges Waschen mit PBS für jeweils 5 min entfernt. Anschließend wird mit 40 einem verdünnten Ziege anti-Maus FITC-gekoppelten Zweitantikörper (Verdünnung 1:50 in PBS mit 0,05 % Tween20, 5 % Trockenmilchpulver und 1 μg/ml DAPI (4',6-Diamidino-2-Phenylindol)) für 30 min bei 37°C inkubiert. Nicht gebundener Antikörper wird durch fünfmaliges Waschen mit PBS für jeweils 5min entfernt. Die FITC- und 45 DAPI-Fluoreszenzen werden an mehreren Stellen der Kavitäten mit Hilfe eines Fluoreszenzscanners gemessen. Zur Auswertung wird das FITC-Signal auf das DAPI-Signal normiert. Die Berechnung der

IC50-Werte erfolgt nach halblogarithmischer Auftragung der normierten Werte der verschiedenen Inhibitorkonzentrationen. Folgende IC $_{50}$ -Werte wurden bestimmt:

5 Beispiel 1: 115 nM
 Beispiel 2: 119 nM
 Beispiel 3: 118 nM

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der Formel I

5

10

15

worin

A N oder CH bedeutet,

20 R1 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes

 C_1-C_6 -Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR^{11} oder eine Gruppe R^5 tragen kann, wobei

R11 Wasserstoff oder C1-C4-Alkyl bedeutet, und

25

R² Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweig-

tes und unverzweigtes C1-C6-Alkyl, Nitro, CF3,

CN, $NR^{21}R^{22}$, $NH-CO-R^{23}$, OR^{21} , wobei

30 R²¹ und R²² unabhängig voneinander Wasserstoff oder

C1-C4-Alkyl bedeuten und

R²³ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten,

und

35

 R^3 - $(CH_2)_q$ -NR³¹R³², - $(CH_2)_q$ -NR³³R³⁴ bedeutet, wobei q

0, 1, 2 oder 3 sein kann,

 R^{31} bedeutet Wasserstoff, $C_1-C_6-Alkyl$, $(CH_2)_rNR^{33}R^{34}$

25

35

R32

bedeutet (CH₂)rNR³³R³⁴,

5 10 15

worin bei R31 und R32 unabhängig voneinander r 2, 3, 4, 5 oder 6 bedeutet und R^{33} und R^{34} unabhängig voneinander Wasserstoff, C1-C6-Alkyl, zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, $N-C_1-C_4-Alkyl$, $N-C_0-C_2-Phenyl$ oder NH tragen kann, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, wobei der Phenylring mit bis zu 3 gleichen oder verschiedenen Substituenten ausgewählt aus der Gruppe C₁-C₆-Alkyl, Halogen, Nitro, SO₂NR³⁵R³⁶ (mit R35, R36 unabhängig voneinander gleich Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, S, SO_2 , $N-C_1-C_4$ -Alkyl, $N-C_0-C_2$ -Phenyl oder NH tragen kann), C_1 - C_4 -Alkoxy, $S(0)_{0-2}$ - R^{37} (mit R^{37} gleich Wasserstoff, C1-C4-Alkyl). CF3, $(CH_2)_{0-4}-COR^{37}$, $(CH_2)_{0-4}NR^{35}R^{36}$, $(CH_2)_{0-4}CONR^{35}R^{36}$,

 $(CH_2)_{0-4}OR^{37}-CH_2COOR^{37}$,

Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes R4 C1-C6-Alkyl, Chlor, Brom, Fluor, Nitro, Cyano, $NR^{41}R^{42}$, $NH-CO-R^{43}$, OR^{41} , wobei

unabhängig voneinander Wasserstoff oder R⁴¹ und R⁴² C₁-C₄-Alkyl bedeuten und

C1-C4-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und R43 30

> sowie ihre tautomeren Formen, möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, deren Prodrugs, sowie mögliche physiologisch verträgliche Salze

zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten, bei denen pathologisch erhöhte Aktivitäten von PARP auftreten.

- Verwendung von Verbindungen nach Anspruch 1, wobei R2 in 40 2. 3-Position und R3 in 4-Position oder R2 in 4-Position und R3 in 3-Position zum Benzimidazolring steht.
- Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei R1 und R4 Wasserstoff bedeuten. 45

- Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei
- R² Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes
 5 C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CN, NH₂, O-C₁-C₄-Alkyl bedeutet.
 - Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei
- R³ (CH₂)_{1,2}NR³⁵R³⁶ und N(R³⁷)-(CH₂)₂₋₃NR³⁵R³⁶ bedeutet, worin R³⁷ Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl sein kann, R³⁵ und R³⁶ unabhängig voneinander Wasserstoff und C₁-C₄-Alkyl und zusammen als NR³⁵R³⁶ auch cyclische aliphatische Amine wie Piperidin, Pyrrolidin, Azepin und Piperazin sein können, wobei das Piperazin am zweiten N-Atom noch mit Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl substituiert sein kann.
- Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
 wobei R² Wasserstoff und A Stickstoff bedeutet.
 - 7. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen.

- 8. Verwendung nach Anspruch 7 zur Behandlung von solchen neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen, die durch Ischämie, Trauma oder Massenblutungen ausgelöst werden.
- 9. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung des Schlaganfalls und des Schädel-Hirntraumas.
- Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung der Alzheimerschen
 Krankheit der Parkinsonsche Krankheit und der Huntington-Krankheit.
- 11. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung oder Prophylaxe von Schädigungen durch Ischämien.
- 12. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonisch-clo-

WO_00/29384 PCT/EP99/08466

nische Anfälle und partiell epileptischen Anfällen, wie Temporal Lope, und komplex-partiellen Anfällen.

- 13. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien und zur Behandlung während und nach Nierentransplantationen.
- 14. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen des Herzens nach cardialen Ischämien.
- 15. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Mikroinfarkten wie zum Beispiel während und nach Herzklappenersatz, Aneurysmenresektionenen und Herztransplantationen.
- 16. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung bei einer Revasculariation kritischer verengter Koronararterien wie zum Beispiel bei PTCA und Bypass-Operationen oder kritisch verengter peripherer Arterien, insbesondere Beinarterien.

25

17. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung des akuten Myocardinfarktes und von Schädigungen während und nach dessen medikamentöser oder mechanischer Lyse.

- 18. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren und deren Metastasierung.
- 35 19. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Sepsis des Multiorganversagens wie zum Beispiel während des septischen Schocks und des "acute respiratory distress-synchroms".
- 40 20. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von immunologischen Kranheiten wie Entzündungen und rheumatische Erkrankungen, wie zum Beispiel rheumatoide Arthritis.

21. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Diabetes mellitus.

5 22. Verbindungen, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl) - benzimidazol-4-carbonsäureamid, 2(4-(N,N-2-(N,N-Dimethyl-amino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid, 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl) - benzimidazol-4-carbonsäureamid, deren Prodrugs oder Salze.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter_onal Application No PCT/EP 99/08466

		101/11 99/	
IPC 7	CO7D235/18 A61K31/4184 CO7D209/	/14 A61K31/404 A61P2	25/00
According to	o International Patent Classification (IPC) or to both national classific	stion and IPC	
	SEARCHED		
IPC 7	coumertation searched (classification system followed by classification CO7D A61K A61P	on aymbols)	
Documental	tion searched other than minimum documentation to the extent that e	uch documents are included in the fields se	before
Electronic d	lata base consulted during the International search (name of data ba	ee and, where practical, ecorch terms used)	
	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the rel	event passeges	Relevant to claim No.
X	WO 97 04771 A (NEWCASTLE UNIVERS VENTURES LTD) 13 February 1997 (1997–02–13) cited in the application claims	SITY	1-22
A	WO 98 06703 A (WARNER LAMBERT CO) 19 February 1998 (1998-02-19) cited in the application claims)	1,22
A	DE 35 22 230 A (THOMAE GMBH DR K) 2 January 1987 (1987-01-02) cited in the application claims)	1,22
	•	-/	
X Furt	ther documents are listed in the continuation of box C.	Patent family members are listed	in armex.
"A" docume consider a single of sing	stegories of cited documents: ent defining the general state of the art which is not dered to be of particular relevance document but published on or after the International date ent which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publication date of another in or other special reason (as apecified) sent referring to an oral disclosure, use, exhibition or means sent published prior to the international filing date but then the priority date claimed	"I" later document published after the inte or priority date and not in conflict with clied to understand the principle or the invention "X" document of particular relevance; the carnot be considered novel or carnot involve an inventive step when the document of particular relevance; the carnot be considered to involve an indexament is combined with one or membra, such combination being obvious the art. "&" document member of the same patent	the application but sory underlying the sistemed invention the considered to cument is taken alone stained invention ventive step when the are other such docu- us to a person skilled
	actual completion of the international search	Dete of mailing of the international ea	arch report
2	24 February 2000	24/03/2000	
Name and	mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 661 epo ni, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Henry, J	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter Inel Application No PCT/EP 99/08466

0.00		101/21 99/08400			
Category *	ution) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	· 1	Relevant to claim No.		
A	GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1, GB, CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH, 1 January 1979 (1979-01-01), pages 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X cited in the application the whole document		1,22		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on putent family members

Inte coel Application No PCT/EP 99/08466

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(e)		Publication date	
WO	9704771	A	13-02-1997	AU	6624096 A	26-02-1997
				CA	2225465 A	13-02-1997
				CN	1195985 A	14-10-1998
				CZ	9800303 A	17-06-1998
				EP	0841924 A	20 - 05-1998
				HU	9901092 A	28-07-1999
				JP	11510154 T	07-09-1999
				NO	980414 A	02-04-1998
				PL	324869 A	22-06-1998
				SK	13598 A	03-06-1998
MO	9806703	Α	19-02-1998	AU	4054197 A	06-03-1998
				EP	0927167 A	07-07-19 9 9
DE	3522230	Α	02-01-1987	AU	5893286 A	24-12-1986
				DK	290986 A	22-12-1986
				EP	0209707 A	28-01-1987
				ES	556338 A	01-12-1987
				ES	557240 A	16-05-1987
				ES	557241 A	16-05-1987
				FI	862623 A	22-12-1986
				GR	861583 A	21-10-1986
				HU	42452 A	28-07-1987
				JP	62000471 A	06-01-1987
				NO	862477 A	22-12-1986
				PT	82789 A,B	01-07-1986
				ZA	8604602 A	24-02-1988

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intex onales Aldenzeichen PCT/EP 99/08466

A. KLASSFEZIERUNG DES ANNIE DUNGSGEGENSTANDES
1PK 7 C07D235/18 A61K31/4184 C07D209/14 A61K31/404 A61P25/00 Nach der Internationalen Patentidassiffication (IPK) oder nach der nationalen Klassiffication und der IPK B. RECHERCHERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klessifficationssystem und Klessifficationssymbole) IPK 7 CO7D A61K A61P Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfetoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evil. verwendete Suchbagdiffe) C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Telle Betr. Ansoruch Nr. X WO 97 04771 A (NEWCASTLE UNIVERSITY 1-22 **VENTURES LTD)** 13. Februar 1997 (1997-02-13) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche A WO 98 06703 A (WARNER LAMBERT CO) 1,22 19. Februar 1998 (1998-02-19) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche A DE 35 22 230 A (THOMAE GMBH DR K) 1,22 2. Januar 1987 (1987-01-02) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche -/--Weitere Veröffentlichungen eind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen X Siche Anhang Patentiamille Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidert, acndem nur zum Verständnis des der Enfindung zugrundellegenden Prinzips oder der ihr zugrundellegenden Theorie angegeben ist * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "X" Veröffenflichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfin izum allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindelsecher Tätigkeit beruhend betrachtet werden "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Priodižiteanspruch zweifelhaft eracheren zu leseen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung beiegt werder soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie Veröffenflichung von besonderer Bedeutung, die beenspruchte Erfindung kann nicht ale auf erfinderlacher Tätigkeit beruhend betrachtet worden, wenn die Veröffenflichung mit einer oder mehreren anderen Veröffenflichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung gür einen Fachmann nahellegend let "O" Veröffenlichung, die eich auf eine mündliche Offenbarung, eine Berutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffenlichung, die vor dem Internationalen Anmaldedatum, aber nach dem beanspruchten Priositätedatum veröffentlicht worden ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie let Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche Absendedatum des Internationalen Flecherchenberichts 24. Februar 2000 24/03/2000 Name und Postanschaft der Internationalen Recherchenbehörde Bevolimächtigter Bedlensteter Europäieches Patentamt, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL – 2280 HV Filmwijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo ni, Henry, J Fax (+31-70) 340-3016

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter ::nalee Aldenzeichen
PCT/EP 99/08466

		PUIZER 99	7 00 100
	sing) ALS WESERITLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Ketegorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angebe der in Betrachtikomn	henden lelle	Betr. Anspruch Nr.
A	GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1,GB,CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH,1. Januar 1979 (1979-01-01), Seiten 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument		1,22

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

THE PROPERTY OF THE PROPERTY O

Inter Indice Alderszeichen
PCT/EP 99/08466

Im Recherchenbericht angeführtes Patentidokument		Datum der Veröffendichung	Mitglied(er) der Patentamille		Datum der Veröffentlichung	
WO 9704771	Α	13-02-1997	AU	6624096 A	26-02-1997	
			CA	2225465 A	13-02-1997	
			CN	1195985 A	14-10-1998	
			CZ	9800303 A	17 - 06-1998	
		•	EP	0841924 A	20-05-1998	
	•		HU	9901092 A	28-07-1999	
			JP	11510154 T	07-09-1999	
			NO	980414 A	02-04-1998	
	•		PL	324869 A	22-06-1998	
			SK	13598 A	03-06-1998	
WO 9806703	A	19-02-1998	AU	4054197 A	06-03-1998	
			EP	0927167 A	07-07-1999	
DE 3522230	A	02-01-1987	AU	5893286 A	24-12-1986	
		•	DK	290986 A	22-12-1986	
			EP	0209707 A	2 8- 01-1987	
			ES	556338 A	01-12-1987	
			ES	557240 A	16-05-1987	
			ES	557241 A	16-05-1987	
			FI	862623 A	22-12-1986	
			GR	861583 A	21-10-1986	
			HU	42452 A	28-07-1987	
			JP	62000471 A	06-01-1987	
			NO	862477 A	22-12-1986	
			PT	82789 A,B	01-07-1986	
			ZA	8604602 A	24-02-1988	